

DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER PHARMAKA AUF DIE ELIMINATION
VON NORADRENALIN AUS DER PERFUSIONSFLÜSSIGKEIT DES
ISOLIERTEN KANINCHENHERZENS

VON

ERWIN WEBER

Mainz 1965



Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky)

DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER PHARMAKA AUF DIE ELIMINATION
VON NORADRENALIN AUS DER PERFUSIONSFLÜSSIGKEIT DES
ISOLIERTEN KANINCHENHERZENS

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen
Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

ERWIN WEBER

aus Wiesbaden-Biebrich

M a i n z 1965

Dekan: Professor Dr. G. Korting
Referent: Privatdozent Dr. E. Muscholl
Korreferent: Professor Dr. G. Kuschinsky

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.1965

In den letzten Jahren wurde in mehreren Arbeiten aus verschiedenen Instituten gezeigt, daß in die Zirkulation gelangtes Noradrenalin in sympathisch innervierte Organe aufgenommen wird. Diese Aufnahme kann durch die Zunahme der Noradrenalinkonzentration des Gewebes gegenüber der Konzentration des endogenen Noradrenalins nach Verabreichung von 1-Noradrenalin (MUSCHOLL 1960, 1961; STRÖMBLAD und NICKERSON; CAMPOS und SHIDEMAN) oder durch die Konzentrierung von H^3 -Noradrenalin im Gewebe nach Gabe von d, 1 H^3 -Noradrenalin (WHITBY, AXELROD und WEIL-MALHERBE) nachgewiesen werden. Wenn Organe mit noradrenalinhaltiger Perfusionsflüssigkeit durchströmt werden, so vermindert sich die arterio-venöse Differenz von Noradrenalin durch Aufnahme desselben in das Gewebe (SIEGEL, GILMORE und SARNOFF; LINDMAR und MUSCHOLL 1962, 1964; THOENEN, HÜRLIMANN und HAEFELY; GILLESPIE und KIRPEKAR). Bilanzversuche von LINDMAR und MUSCHOLL (1964) zeigten, daß am isolierten perfundierten Rattenherzen die aus der Perfusionsflüssigkeit verschwundene Noradrenalinmenge (eliminierte Menge) mit der in das Herz aufgenommenen Menge nahezu übereinstimmt.

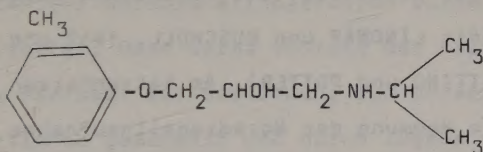
Man weiß, daß die Noradrenalinaufnahme in das Herz durch verschiedene Pharmaka herabgesetzt bzw. gehemmt werden kann. So zeigte MUSCHOLL (1960), daß bei der

Ratte 20 Stunden nach Verabreichung von Reserpin die Aufnahme von Noradrenalin in das Herz vollkommen blockiert ist. Am isolierten Kaninchenherzen fanden LINDMAR und MUSCHOLL (1962), daß Dichlorisoproterenol, Cocain, Pseudococain und Guanethidin den Noradrenalingehalt des Perfusates von 60% bei den Kontrollen auf 90% des infundierten Noradrenalins steigerten. Nach Tetracain und Vorbehandlung der Kaninchen mit Iproniazid stieg der Noradrenalingehalt des Perfusates auf 70%, nach Harmalin auf 80% an. Die gleichen Autoren zeigten auch 1964, daß Nethalide die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit des isolierten Herzens hemmt. HERTTING, AXELROD und WHITBY zeigten, daß Tyramin, Amphetamin, Cocain, Chlorpromazin, Imipramin, Reserpin, Guanethidin und Dibenzylin die Konzentration von injiziertem H^3 -Noradrenalin im Herzen der Katze deutlich reduzierten.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob g-Strophanthin und 1-(3-Methylphenoxy)-2-hydroxy-3-isopropylamino-propan (MHIP) die Noradrenalinaufnahme in das isolierte durchströmte Kaninchenherz beeinflussen. g-Strophanthin wurde gewählt, da nach DENGLER, MICHAELSON, SPIEGEL und TITUS g-Strophanthin die Aufnahme von H^3 -Noradrenalin aus dem Inkubationsmedium

in Hirnschnitte hemmt. Es ist nun interessant, ob g-Strophanthin auch einen Einfluß auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit des nach Langendorff durchströmten Kaninchenherzens hat.

1-(3-Methylphenoxy)-2-hydroxy-3-isopropylamino-propan ist eine neue, die β -Rezeptoren blockierende Substanz.



Da ein asymmetrisches Kohlenstoffatom vorhanden ist, gibt es zwei optische Isomeren. Bisher konnte erst die optisch inaktive, racemische Form untersucht werden, so daß über die Eigenschaften der Isomeren noch nichts bekannt ist. Pharmakologische Untersuchungen charakterisieren MHIP als kompetitives β -Adrenolyticum von hoher Spezifität und Wirksamkeit. Die Substanz blockiert durch β -Rezeptoren vermittelte Sympathicuswirkungen am Herzen, am Blutkreislauf, an den Bronchien und im Fettstoffwechsel. Partielle Hemmungen sind im Kohlehydratstoffwechsel und am Darm nachzuweisen. Eine sympathomimetische Eigenwirkung ist am kardiovaskulären

System, am Bronchialsystem und im Fettstoffwechsel nicht vorhanden (ENGELHARDT 1964, und persönliche Mitteilung)

In der vorliegenden Arbeit wurde MHIP zum Zwecke des Vergleiches deshalb untersucht, weil andere die β -Rezeptoren blockierende Substanzen, wie Dichlorisoproterenol und Nethalide, die Noradrenalin Aufnahme in das Herz der Ratte oder des Kaninchens hemmen (MUSCHOLL 1961; LINDMAR und MUSCHOLL, 1962 und 1964; AXELROD, HERTTING und POTTER). Am Katzenherzen wurde dagegen keine Hemmung der Noradrenalin Aufnahme durch Dichlorisoproterenol beobachtet (HERTTING, AXELROD und WHITBY).

Methoden

1) Perfusion der isolierten Kaninchenherzen

Die Versuche wurden an 31 nach Langendorff durchströmten Herzen 1500-2850 g schwerer Kaninchen durchgeführt. Die zur Perfusion verwendete Tyrodelösung hatte folgende Zusammensetzung: 8,0 g NaCl, 0,2 g CaCl_2 , 0,1 g MgCl_2 , 1,0 g NaHCO_3 , 0,05 g NaH_2PO_4 , 1,0 g Glukose, Aqua dest. ad 1000 ml. Zugewetzt wurden 10^{-5} g/ml Ascorbinsäure, oxygeniert wurde mit einem Gemisch von 95% O_2 und 5% CO_2 . Ein Thermostat hielt die Temperatur der Lösung auf 32°C . Der Per-

fusionsdruck betrug 60 cm H₂O. Frühestens 75 Minuten nach Beginn der Perfusion wurde mit der Noradrenalinperfusion begonnen. Das Noradrenalin wurde in einer in einem Wasserbad auf 32°C erwärmten Tyrodelösung in einer Konzentration von 10 ng/ml gelöst. Dann wurde die normale Tyrodelösung aus dem Steigrohr der Langendorffapparatur abgesaugt und durch die noradrenalinhaltige Lösung ersetzt. Während der ersten beiden Minuten der Noradrenalinperfusion wurde das Perfusat verworfen. Dann wurde während der folgenden 18 Minuten das Perfusat zur Bestimmung von Noradrenalin in vier Portionen gesammelt und durch Zugabe von 1n H₂SO₄ ein pH von 3 eingestellt. Vor und nach der Noradrenalinperfusion wurden je 100 ml Noradrenalin enthaltende Tyrodelösung zu Ausbeutebestimmungen entnommen. Die Kontraktionen des Herzens wurden auf einer Rußtrommel registriert. Der Einfluß von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit wurde geprüft, indem die Substanzen 8-27 Minuten vor und während der Noradrenalinperfusion einwirkten. Die Pharmaka wurden in vorgewärmter Tyrodelösung gelöst und zuerst dem Herzen allein und anschließend mit Noradrenalin zusammen angeboten. In anderen Versuchen wurden die Pharmaka gleichzeitig mit Noradrenalin gegeben. Durch dieses Vorgehen blieben, auch bei Änderungen des Coronardurchflusses, die Konzentrationen

des Noradrenalins und der Pharmaka in der Perfusionsflüssigkeit gleich.

2) Bestimmung von Noradrenalin in den Perfusaten

Das im Perfusat und in den beiden Ausbeuteproben vorhandene Noradrenalin wurde nach VON EULER und ORWEN bei einem pH von 8,8 (automatischer Titrator) an Al_2O_3 adsorbiert und anschließend mit 0,5 n H_2SO_4 eluiert (LINDMAR und MUSCHOLL 1964). Das Noradrenalin wurde dann biologisch am Blutdruck der despinalisierten Ratte und fluorometrisch bestimmt.

3) Noradrenalinbestimmung am Blutdruck der despinalisierten Ratte (nach HOLZBAUER und VOGT)

Es wurden männliche Ratten von ungefähr 180 g Körpergewicht verwendet. Diese bekamen 1/4 Stunde vor Narkosebeginn 0,1 ml einer 1%igen Atropinlösung. Dann wurden die Ratten mit Äther narkotisiert und auf das Operationsbrett festgebunden. Zuerst wurde die Trachea freigelegt und dann eine Arteria carotis und eine Vena femoralis freipräpariert. Eine Trachealkanüle wurde eingelegt und durch Orbita und Foramen occipitale magnum eine Nadel in den Rückenmarkskanal gestoßen. Dann wurde die Ratte mittels einer Atempumpe künstlich beatmet. In eine Vena femoralis wurde eine Plastikkanüle eingebunden, die über einen Gummischlauch mit einer

Bürette verbunden war, um die zu bestimmenden Noradrenalinproben in den großen Kreislauf zu bringen. Nach Einlegen der Kanüle wurden sofort 0,3 ml einer 1%igen Heparinlösung in den Gummischlauch injiziert. Danach wurde eine Kanüle in eine Arteria carotis eingebunden und über ein Quecksilbermanometer die Blutdruckhöhe auf einer Rußtrommel registriert. Es wurden nun die zu testenden Proben mit NaHCO_3 auf pH 3-4 gebracht. Wenn die pharmakologische Aktivität der Testlösung zu groß war, wurde mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Dann wurde 0,1 ml der zu testenden Lösung in den Gummischlauch injiziert und mit physiologischer Kochsalzlösung aus der Bürette nachgespült. Die Blutdruckzacke, die die zu testende Lösung ergab, wurde stets von zwei Zacken einer Standardlösung "eingeklammert", wobei eine Dosis einen größeren und die andere einen kleineren Effekt ausüben mußte. Schließlich wurde eine sich aus dem Mittelwert der beiden Standards ergebende Dosis gegeben, die eine Zacke gleicher Höhe wie die der Probe hervorrufen mußte. Die für die Perfusate erhaltenen Noradrenalinmengen wurden mit dem Ausbeutefaktor des betreffenden Versuches korrigiert. Die Extremwerte von 57 Ausbeutebestimmungen betrugen 45 und 80%.

4) Fluorometrische Bestimmung der Proben

In aliquoten Teilen der Al_2O_3 -Eluate von Perfusaten und Ausbeuteproben wurde Noradrenalin nach der von BERTLER, CARLSON und ROSENGREN modifizierten Trihydroxyindolmethode fluorometrisch gemessen. Dazu wurden 0,2 ml der betreffenden Probe in ein 10 ml-Kölbchen einpipettiert, mit einigen ml Aqua dest. und 1,0 ml 0,1M Na-Phosphatpuffer (pH=6,5) versetzt und mit 1/4 normaler NaOH auf ein pH von 6,5 eingestellt. 0,1 ml 0,25%iger ZnSO_4 -Lösung wurde als Katalysator zugegeben und das Volumen auf 8,9 mit H_2O aufgefüllt. Dann wurde 0,1 ml 0,25%iger Kaliumferri-cyanidlösung als Oxydationsmittel hinzugegeben und nach 2 Minuten die Oxydation mit 0,1 ml einer 2%igen Ascorbinsäurelösung unterbrochen. Durch gleichzeitige Gabe von 0,9 ml 5n NaOH wurde eine Umlagerung von Noradrenochrom zu Noradrenolutin (Trihydroxyindol) bewirkt. Von jeder Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt und ein Reagenzienleerwert bestimmt. Vor der fluorometrischen Bestimmung wurden die fertigen Proben nochmals 2 Minuten lang zentrifugiert, um auch die letzten Spuren von ausgefallenen Aluminiumverbindungen zu entfernen. Dann wurde die Fluoreszenz bei 520 nm bei einer Anregung von 395 und 436 nm mit dem Zeiß-Spektralfluorometer gemessen. Durch diese Differentialmethode konnte aus Kontrollgründen auch

der Adrenalingehalt bestimmt werden. Wie zu erwarten, wichen die Adrenalinwerte nicht signifikant von dem Wert 0 ab. Deshalb wurden sie auch nicht berücksichtigt.

5) Substanzen

Es wurden verwendet: l-n-Cocain-HCl (E. Merck, Darmstadt); 1-(3-Methylphenoxy)-2-hydroxy-3-isopropyl-amino-propan-HCl, MHIP, Präparat Kö 592 der Fa. C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim; l-Noradrenalin (Farbwerke Hoechst, Hoechst); g-Strophanthin, DAB 6, (Kali-Chemie, Hannover). Die angegebenen Dosen von Cocain und MHIP beziehen sich auf die Salze. Dosen und Konzentrationen von l-Noradrenalin sind auf die Base bezogen.

6) Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte nach der üblichen Standardmethode (SNEDECOR). Die Mittelwerte ($\bar{x}$) sind immer mit dem mittleren Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) angegeben. n ist die Anzahl der Einzelwerte.

Ergebnisse

1) Die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit

Die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusions-

flüssigkeit während der Durchströmung des isolierten Kaninchenherzens wurde untersucht, indem dem Herzen 10 ng Noradrenalin pro ml Tyrodelösung angeboten wurde. Die in den Perfusatproben vorhandene Noradrenalinmenge (korrigiert mit dem Ausbeutefaktor des betreffenden Tages) wurde als Prozentsatz des mit der Tyrodelösung insgesamt angebotenen Noradrenalins ausgedrückt. Aus der Größe des Durchflusses ließ sich die Menge des angebotenen Noradrenalins genau bestimmen. Aus der Differenz zwischen angebotenen Noradrenalin in der Tyrodelösung und im Perfusat nach der Herzpassage vorhandener Menge ließ sich die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit durch das Herz bestimmen. Nach LINDMAR und MÜSCHOLL (1964) stellt sich während der beiden ersten Minuten der Perfusion das Gleichgewicht für die Verteilung von Noradrenalin im Extracellulärraum ein. Deshalb wurde das Perfusat der beiden ersten Minuten verworfen und erst dann während der folgenden 18 Minuten gesammelt.

Nach dem Ergebnis der biologischen Bestimmung waren nun in 7 Kontrollversuchen bei 27 Perfusaten $50,0 \pm 1,7\%$ des angebotenen Noradrenalins aus dem Perfusat verschwunden. In allen Perfusatproben wurde das Noradrenalin auch fluorometrisch bestimmt: die aus der

Perfusionsflüssigkeit eliminierte Noradrenalinmenge betrug dabei $46,0 \pm 2,2\%$ des angebotenen Noradrenalins (Tabelle 1).

Die Schlagfrequenz nahm von $118 \pm 7,8$ pro Minute im Mittelwert um $6,0 \pm 2,5\%$ ab, desgleichen auch der Coronardurchfluß von $21,0 \pm 2,8$ ml/min um $18,3 \pm 3,7\%$ (Tabelle 2 und 3).

2) Der Einfluß von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit

Der Einfluß von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit wurde geprüft, indem die Substanzen 8-27 Minuten vor und während der Noradrenalinperfusion einwirkten. Die Pharmaka wurden in vorgewärmter Tyrodelösung gelöst und zuerst dem Herzen allein und anschließend mit Noradrenalin zusammen angeboten. In anderen Versuchen wurden die Pharmaka nur gleichzeitig mit Noradrenalin gegeben.

I. Strophantizin

a) Es wurde zuerst geprüft, welchen Einfluß g-Strophantizin in der Konzentration von 2×10^{-7} g/ml ausübt. Dies entspricht einer $2,74 \times 10^{-7}$ molaren Lösung. Die strophantzinhaltige Lösung wurde in 4 Versuchen dem Herzen zuerst 15 bis 27 Minuten lang appliziert. Dann wurde auf noradrenalin- und strophanthinhaltige Tyrode-

Tabelle 1

Aus der Perfusionsflüssigkeit des Kaninchenherzens eliminierte Noradrenalinmenge nach Einwirkung von g-Strophanthin, MHIP und Cocain.

Behandlung:	Konzentration g/ml	Bestimmungsmethode			
		biologisch	n	fluorometr.	n
Kontrolle	-	50,0 $\pm$ 1,7 %	27	46,0 $\pm$ 2,2 %	27
Strophanthin	2x10 ⁻⁷	47,3 $\pm$ 2,8 %	16	42,6 $\pm$ 3,1 %	16
Strophanthin	7,3x10 ⁻⁷	49,2 $\pm$ 4,5 %	12	43,5 $\pm$ 4,2 %	12
Strophanthin	1,1x10 ⁻⁶	45,1 $\pm$ 2,8 %	16	37,8 $\pm$ 3,4 %	16
Strophanthin	1,46x10 ⁻⁶	49,1 $\pm$ 2,2 %	16	42,6 $\pm$ 2,5 %	16
Cocain	10 ⁻⁵	7,3 $\pm$ 3,9 %	12	10,2 $\pm$ 2,9 %	12
MHIP	10 ⁻⁶	60,3 $\pm$ 2,6 %	4	46,0 $\pm$ 4,7 %	4
MHIP	5x10 ⁻⁶	53,8 $\pm$ 4,3 %	4	40,2 $\pm$ 6,3 %	4
MHIP	10 ⁻⁵	47,8 $\pm$ 4,1 %	12	47,0 $\pm$ 1,4 %	12

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ der aus der Perfusionsflüssigkeit verschwundenen Noradrenalinmenge in % der infundierten Menge unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka.

n = Anzahl der Perfusatproben

Die dem isolierten Herzen angebotene Noradrenalinmenge ist überall gleich (10⁻⁸ g/ml).

Tabelle 2

Prozentuale Veränderung des Coronardurchflusses des isolierten Kaninchenherzens durch Infusion von Noradrenalin und g-Strophanthin, Cocain oder MHIP.

Behandlung:	Konzentration g/ml	Änderung des Coronardurch- flusses	n
Kontrolle	-	-18,3 $\pm$ 3,7 %	23
Strophanthin	2x10 ⁻⁷	- 6,9 $\pm$ 7,4 %	16
Strophanthin	7,3x10 ⁻⁷	-37,0 $\pm$ 5,0 %	8
Strophanthin	1,1x10 ⁻⁶	-33,0 $\pm$ 5,6 %	16
Strophanthin	1,46x10 ⁻⁶	-34,1 $\pm$ 5,1 %	16
Cocain	10 ⁻⁵	-28,0 $\pm$ 3,7 %	12
MHIP	10 ⁻⁶	-38,0 $\pm$ 1,7 %	4
MHIP	5x10 ⁻⁶	-29,0 $\pm$ 4,5 %	5
MHIP	10 ⁻⁵	-24,0 $\pm$ 4,4 %	15

Angegeben sind die Mittelwerte der Veränderungen in Prozent $\pm s_{\bar{x}}$, bezogen auf den Coronardurchfluß bei Perfusion mit normaler Tyrodelösung.

n = Anzahl der Messungen

Wegen der z.T. kleinen Beobachtungszahlen ist zu beachten, daß die Aussageschärfe der Bereichsabgrenzung um den Mittelwert bei den Behandlungen verschieden ist. Um Bereiche mit der gleichen Wahrscheinlichkeitsaussage abzugrenzen, müssen daher entsprechend der t-Verteilung verschiedene Vielfache von $s_{\bar{x}}$ verwendet werden. Für einen Bereich, in dem der unbekannte Mittelwert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % vermutet wird, gilt

bei großem n	$\pm 2 s_{\bar{x}}$
bei n = 23	$\pm 2,1 s_{\bar{x}}$
n = 16	$\pm 2,1 s_{\bar{x}}$
n = 12	$\pm 2,2 s_{\bar{x}}$
n = 8	$\pm 2,4 s_{\bar{x}}$
n = 5	$\pm 2,8 s_{\bar{x}}$
n = 4	$\pm 3,2 s_{\bar{x}}$

Tabelle 3

Prozentuale Veränderung der Schlagfrequenz des isolierten Kaninchenherzens durch Infusion von Noradrenalin und g-Strophanthin, Cocain oder MHIP.

Behandlung:	Konzentration g/ml	Änderung der Schlag- frequenz	n
Kontrolle	-	- 6,0 $\pm$ 2,5 %	24
Strophanthin	2x10 ⁻⁷	+19,0 $\pm$ 9,7 %	12
Strophanthin	7,3x10 ⁻⁷	+33,1 $\pm$ 10,3%	6
Strophanthin	1,1x10 ⁻⁶	+52,2 $\pm$ 20,4%	5
Strophanthin	1,46x10 ⁻⁶	+48,0 $\pm$ 9,4 %	7
Cocain	10 ⁻⁵	+50,0 $\pm$ 2,2 %	12
MHIP	10 ⁻⁶	- 0,5 $\pm$ 1,1 %	5
MHIP	5x10 ⁻⁶	-13,0 $\pm$ 2,9 %	5
MHIP	10 ⁻⁵	-15,5 $\pm$ 1,0 %	15

Angegeben sind die Mittelwerte der Veränderungen in Prozent $\pm s_{\bar{x}}$, bezogen auf die Schlagfrequenz bei Perfusion mit normaler Tyrodelösung.

n = Anzahl der Messungen

lösung umgewechselt. Bei den 16 Perfusatproben waren nach der biologischen Bestimmung $47,3 \pm 2,8 \%$ und nach der fluorometrischen Bestimmung $42,6 \pm 3,1 \%$ des applizierten Noradrenalins aus der Perfusionsflüssigkeit verschwunden (Tabelle 1). Der Coronardurchfluß nahm nach Strophanthin um $20,3 \pm 10,5 \%$ ab und die Schlagfrequenz nahm um $4,7 \pm 0,41 \%$ zu.

Nach Zusatz von Noradrenalin stieg der Coronardurchfluß an und war gegenüber der Vorperiode, in der nur Tyrodelösung perfundiert wurde, nicht mehr signifikant verändert ($-6,9 \pm 7,4 \%$). Die Schlagfrequenz nahm gegenüber den Werten der Vorperiode um $19,0 \pm 9,7 \%$ zu (Tabelle 2 und 3).

In drei Versuchen trat bei der Perfusion mit Strophanthin und Noradrenalin zwischen der 13. und 17. Minute ein Herzblock auf, welcher auf den Coronardurchfluß keinen großen Einfluß hatte.

b) Bei der nächsthöheren Konzentration von $7,3 \times 10^{-7}$ g/ml (10^{-6} molare Lösung) wurde das Strophanthin sofort zusammen mit dem Noradrenalin infundiert. In zwei Versuchen, in denen Strophanthin vorgegeben wurde, trat sofort bei Infusion von Noradrenalin ein Herzblock auf. Um den Zeitpunkt des auftretenden Herzblockes zu verschieben, wurde in den folgenden Versuchen nicht

mit Strophanthin vorbehandelt, sondern dieses zusammen mit Noradrenalin gegeben.

In drei Versuchen (12 Perfusatproben) wurden nach der biologischen Bestimmung $49,2 \pm 4,5 \%$ und nach der fluorometrischen Bestimmung $43,5 \pm 4,2 \%$ durch das Herz eliminiert (Tabelle 1). Der Coronardurchfluß nahm um $37,0 \pm 5,0 \%$ ab, die Schlagfrequenz nahm um $33,1 \pm 10,3 \%$ zu (Tabelle 2 und 3).

Hier trat zwischen der 8,5. und 12,5. Minute ein Herzblock auf, welcher auf den Coronardurchfluß keinen großen Einfluß hatte.

c) Da sich bei den oben beschriebenen Konzentrationen kein Einfluß auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit zeigte, wurde in 4 Versuchen die Strophanthinkonzentration auf $1,1 \times 10^{-6}$ g/ml ($= 1,5 \times 10^{-6}$ molare Lösung) erhöht. Bei den 16 Perfusatproben waren nach der biologischen Bestimmung $45,1 \pm 2,8 \%$ und nach der fluorometrischen Bestimmung $37,8 \pm 3,4 \%$ des applizierten Noradrenalins aus dem Perfusat verschwunden (Tabelle 1).

Der Coronardurchfluß nahm um $33,0 \pm 5,6 \%$ ab, die Schlagfrequenz nahm um $52,2 \pm 20,4 \%$ zu (Tabelle 2 und 3).

Bei allen 4 Versuchen trat zwischen der 7. und 11,5. Minute wieder ein Herzblock auf, ohne den Coronardurchfluß wesentlich zu verändern.

d) Die höchste von uns verwendete Strophanthinkonzentration betrug $1,46 \times 10^{-6}$ g/ml ($= 2 \times 10^{-6}$ molare Lösung). Dabei wurden in 4 Versuchen mit 16 Perfusaten nach der biologischen Bestimmung $49,1 \pm 2,2 \%$ und nach der fluorometrischen Bestimmung $42,6 \pm 2,5 \%$ des Noradrenalins eliminiert (Tabelle 1). Der Coronardurchfluß nahm um $34,1 \pm 5,1 \%$ ab, die Schlagfrequenz um $48,0 \pm 9,4 \%$ zu (Tabelle 2 und 3).

Der Herzblock zeigte sich bei den 4 Versuchen zwischen der 7. und 11,5. Minute.

II. MHIP

Die β -rezeptorenblockierende Wirkung von MHIP am isolierten durchströmten Kaninchenherzen konnte in folgender Weise demonstriert werden: mittels einer Infusionspumpe wurde dem Herzen $2 \mu\text{g}$ Noradrenalin in 2 Minuten injiziert. Dabei zeigte sich eine positiv inotrope Wirkung, auch nahm die Schlagfrequenz von 60 auf 104 zu. Bei Verwendung von Tyrodelösung, welche MHIP in einer Konzentration von 10^{-5} g/ml enthielt, hatte das infundierte Noradrenalin keine positiv inotrope und chronotrope Wirkung.

Es wurde nun geprüft, welchen Einfluß MHIP auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit hat. MHIP wurde in verschiedenen Konzentrationen 13 bis 14,5 Minuten vor und dann mit der noradrenalinhaltigen Tyrodelösung dem Herzen angeboten.

Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

a) Mit einer Konzentration von 10^{-6} g/ml wurde ein Versuch durchgeführt. Nach dem Ergebnis der biologischen Bestimmung wurden $60,3 \pm 2,6$ % und nach der fluorometrischen Bestimmung $46,0 \pm 4,7$ % aus dem Perfusat eliminiert (Tabelle 1).

Der Coronardurchfluß veränderte sich nach MHIP nicht, die Schlagfrequenz nahm in dem Versuch um 3,2 % zu. Durch MHIP und Noradrenalin nahm der Coronardurchfluß um $38,0 \pm 1,7$ % gegenüber den Werten der Vorperiode ab. Die Schlagfrequenz änderte sich nicht ($-0,5 \pm 1,2\%$) (Tabelle 2 und 3).

b) Bei der nächsthöheren Konzentration von MHIP (5×10^{-6} g/ml) waren in einem Versuch mit der biologischen Methode $53,8 \pm 4,3$ % und mit der fluorometrischen $40,2 \pm 6,3$ % des angebotenen Noradrenalins im Perfusat nicht mehr wiederzufinden (Tabelle 1).

Der Coronardurchfluß verringerte sich nach MHIP um 9,5 %, desgleichen die Schlagfrequenz um 22,2 %. Eine Abnahme des Coronardurchflusses um $29,0 \pm 4,9$ % und der Schlagfrequenz um $13,0 \pm 2,9$ % zeigte sich nach Infusion von MHIP und Noradrenalin, bezogen auf Coronardurchfluß und Schlagfrequenz in der Vorperiode (Tabelle 2 und 3).

c) Die höchste verwendete Konzentration von MHIP betrug 10^{-5} g/ml. Dabei waren in 3 Versuchen (12 Perfusaten) nach der biologischen Bestimmung $47,8 \pm 4,1$ % und nach der fluorometrischen Bestimmung $47,0 \pm 1,4$ % des Noradrenalins aus der Perfusionsflüssigkeit verschwunden (Tabelle 1).

Nach MHIP änderte sich der Coronardurchfluß nicht signifikant ($4,0 \pm 5,3$ %). Die Schlagfrequenz nahm um $10,6 \pm 2,0$ % ab. Wenn zusätzlich Noradrenalin infundiert wurde, nahm der Coronardurchfluß um $24,0 \pm 4,4$ % und die Schlagfrequenz um $15,5 \pm 1,0$ % gegenüber den Werten der Vorperiode ab (Tabelle 2 und 3).

III. Cocain

Schließlich wurde noch die Wirkung von Cocain, von dem bekannt ist, daß es die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit hemmt, untersucht, um die Leistungsfähigkeit der Methode zu prüfen.

Cocain wurde 8 bis 10 Minuten vor der Noradrenalininfusion in einer Konzentration von 10^{-5} g/ml angewandt und dann zusammen mit Noradrenalin weiter infundiert. Nach dem Ergebnis der biologischen Bestimmung wurden $7,3 \pm 3,9$ % und nach der fluorometrischen Bestimmung $10,2 \pm 2,9$ % aus dem Perfusat eliminiert. Damit hemmt Cocain die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit gegenüber den nur mit Noradrenalin infundierten Kontrollen signifikant (Tabelle 1).

Nach Cocain und Noradrenalin zusammen nahm der Coronardurchfluß um $28,0 \pm 3,7$ % ab und die Schlagfrequenz um $50,0 \pm 2,2$ % zu (Tabelle 2 und 3).

Besprechung der Versuchsergebnisse

Es wurde wiederholt in verschiedenen Laboratorien gezeigt, daß in die Zirkulation gelangtes Noradrenalin in sympathisch innervierte Organe aufgenommen wird. Man weiß auch, daß verschiedene Pharmaka diese Aufnahme von Noradrenalin hemmen (Arbeiten dazu siehe Einleitung). Über die Wirkung von Strophanthin oder anderen Herzglykosiden auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit isolierter durchströmter Herzen lagen bisher keine Untersuchungen vor.

Ich sah bei meinen Untersuchungen keinen Einfluß von g-Strophanthin auf die Noradrenalin Aufnahme in das Herz. Meine Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von DENGLER, MICHAELSON, SPIEGEL und TITUS, welche in vitro an Gewebsschnitten von Hirn, Milz und Herz eine Hemmung der Aufnahme von H^3 -Noradrenalin durch $10^{-5}M$ g-Strophanthin fanden. Diese Strophanthinkonzentration war fünfmal höher als die höchste von mir verwendete. Die von mir verwendeten Konzentrationen von Strophanthin ab $7,3 \times 10^{-7}$ g/ml waren bereits toxisch, denn es trat ein Herzblock auf. Ebenso finden sich in der Literatur Angaben, daß bei Strophanthinkonzentrationen von 5×10^{-7} bis 10^{-6} g/ml Einflüsse auf den K-Na-Austausch des Herzens zu erwarten sind: durch eine Verminderung des K-Influxes bei unbeeinflußtem K-Efflux resultiert eine Abnahme der intracellulären K-Konzentration, teilweise wird auch eine Na-Aufnahme festgestellt (Literaturübersicht bei KLAUS). Meiner Ansicht nach liegt die Diskrepanz beider Untersuchungsbefunde in der verschiedenen Versuchsanordnung. Während der Perfusion isolierter Kaninchenherzen mit Noradrenalin findet in denselben eine beträchtliche Konzentrierung von Noradrenalin statt. Bei der von mir verwendeten Methode ist eine Konzentrierung von 28-35 : 1 zu erwarten, wie Bilanzversuche von LINDMAR und MUSCHOLL (1964)

zeigten. Auch IVERSEN (1963) fand bei Noradrenalin-konzentrationen von 10 ng/ml ungefähr die gleichen Noradrenalin-konzentrierungen im isolierten durchströmten Rattenherzen wie LINDMAR und MUSCHOLL (1964). In den Untersuchungen von DENGLE, MICHAELSON, SPIEGEL und TITUS wurde dagegen bei Inkubation von Herzschnitten der Katze in einem Krebs-Bicarbonat-Medium, welches 5 ng/ml H^3 -Noradrenalin enthielt, in 60 Minuten nur eine maximale Konzentrierung von 4:1 beobachtet. Die Bedingungen für die Aufnahme und Konzentrierung von Noradrenalin sind demnach am isoliert durchströmten Herzpräparat anders und besser als an isolierten Schnitten. Vielleicht war der Aufnahmemechanismus von Noradrenalin bei den Versuchen von DENGLE und Mitarbeitern schon weitgehend geschädigt und Strophanthin in toxischer Konzentration führte dann zu einer weiteren Schädigung.

Meine Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit denen von HERTTING, AXELROD und WHITBY. Diese Autoren sahen bei männlichen Katzen in vivo keinen Effekt von g-Strophanthin auf Gewebs- und Plasmakonzentrationen von i.v. gegebenem H^3 -Noradrenalin. Allerdings geben diese Autoren in ihrer Arbeit eine so hohe Dosis von g-Strophanthin an (50 mg g-Strophanthin/kg Körpergewicht i.v.), daß ein Druckfehler angenommen werden muß, denn nach SPECTOR beträgt die durchschnittliche letale Dosis von i.v.

gegebenem g-Strophanthin bei Katzen 0,15 mg/kg. POTTER und AXELROD konnten auch an gereinigten Präparaten von Noradrenalin-speicherpartikelchen von Rattenherzen keinen Einfluß von g-Strophanthin auf die Aufnahme von H^3 -Noradrenalin aus dem Inkubationsmedium sehen.

In meiner Arbeit wurde nun noch der Einfluß von MHIP auf die Elimination von Noradrenalin durch das isolierte Kaninchenherz untersucht. MHIP, eine die β -Rezeptoren blockierende Substanz, wurde deshalb gewählt, weil man von einer anderen die β -Rezeptoren blockierenden Substanz, dem Dichlorisoproterenol weiß, daß sie die Noradrenalinaufnahme in das Herz hemmt (MUSCHOLL 1961, AXELROD, HERTTING und POTTER). Nach LINDMAR und MUSCHOLL (1962) hemmt Dichlorisoproterenol die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit des Kaninchenherzes. Diese Autoren konnten auch sympathomimetische Eigenwirkungen des Dichlorisoproterenols an diesem Präparat nachweisen, welche auch schon von MORAN und PERKINS an verschiedenen Testpräparaten beschrieben worden waren. Nethalide, ein weiteres β -Sympatholyticum, setzt ebenfalls die Elimination von Noradrenalin durch das Herz sehr stark herab (LINDMAR und MUSCHOLL, 1964). Sympathomimetische Eigenwirkungen von Nethalide wurden von DOUTHEIL, SCHMIDT und KRAMER beschrieben. Diese Autoren sahen am Herzlungenpräparat von Hunden positiv

inotrope und chronotrope Wirkungen. BLACK und STEPHENSON beobachteten an Tieren mit intaktem Kreislauf keine sympathomimetischen Eigenwirkungen. Wie DOUTHEIL und Mitarbeiter feststellten, könnten dabei eventuell am Herzen auftretende Eigenwirkungen von Einflüssen des peripheren Kreislaufs überdeckt werden. Ich konnte am perfundierten Herzen die positiv inotrope und chronotrope Wirkung von injiziertem Noradrenalin durch vorherige Gabe von MHIP aufheben. Aus den Veränderungen der Schlagfrequenz nach MHIP (siehe Ergebnisse) kann man nicht auf sympathomimetische Eigenwirkungen dieser Substanz schließen. Die Tierversuche von ENGELHARDT erbrachten ebenfalls keinen Anhalt für sympathomimetische Eigenwirkungen dieser Substanz. Bei meinen Versuchen hatte MHIP keinen Einfluß auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit, im Gegensatz zu den erwähnten Befunden mit den anderen β -rezeptorenblockierenden Substanzen, wie Dichlorisoproterenol und Nethalide. Meine Versuche zeigen, daß β -rezeptorenblockierende Wirkung und Hemmung der Noradrenalin Aufnahme in das isolierte Herz nicht korreliert zu sein brauchen. Wie oben gezeigt, haben Dichlorisoproterenol und wahrscheinlich auch Nethalide sympathomimetische Eigenwirkungen. Daraus kann man schließen, daß nur solche β -rezeptorenblockierende Substanzen einen Einfluß auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit haben, die selbst

sympathomimetische Eigenwirkungen besitzen und daß die Wirkung dieser Substanzen auf die β -Rezeptoren keine Rolle bei der Noradrenalin Aufnahme in das isolierte Herz spielt. Wenn man die sympathomimetische Eigenwirkung des Dichlorisoproterenol und des Nethalide für die Hemmung der Aufnahme von Noradrenalin verantwortlich macht, dann kann man auf den gleichen Wirkungsmechanismus schließen, wie er beim Tyramin und beim Amphetamin vorliegt. Von diesen Sympathomimetica ist bekannt, daß sie die Noradrenalin Aufnahme hemmen (HERTTING, AXELROD und WHITBY; IVERSEN 1964).

In meiner Arbeit wurde auch noch der Einfluß von Cocain untersucht, welches die Noradrenalin Aufnahme in Gewebsspeicher hemmt (MUSCHOLL 1961; HERTTING, AXELROD und WHITBY; LINDMAR und MUSCHOLL 1964). Cocain wurde als Vergleichssubstanz gewählt, um die experimentelle Methode zu prüfen, die sich von der von LINDMAR und MUSCHOLL verwendeten etwas unterscheidet. Diese Autoren infundierten, unabhängig vom Coronardurchfluß, eine bestimmte Menge von Noradrenalin in einer bestimmten Zeit mittels einer Infusionspumpe, während in der vorliegenden Arbeit das Noradrenalin in der Perfusionsflüssigkeit gelöst war und das dem Herzen in der Zeiteinheit angebotene Noradrenalin von der Höhe des Coronardurchflusses abhing. Cocain bewirkte auch bei dieser Untersuchungsmethode eine signifikante Hemmung der

Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit des isolierten Kaninchenherzens. Somit dürfte nicht ein methodischer Fehler die Ursache dafür sein, in der Arbeit keinen Einfluß von Strophanthin und MHIP auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit gefunden zu haben.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß eines Herzglykosides (g-Strophanthin), eines Adrenolytikums (MHIP 1-(3-Methylphenoxy)-2-hydroxy-3-isopropylamino-propan) und von Cocain auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit durch das nach Langendorff isoliert durchströmte Kaninchenherz untersucht.

Noradrenalin wurde 20 Minuten lang dem isolierten Herzen in einer Konzentration von 10^{-8} g/ml angeboten. Während 18 Minuten wurde das Perfusat in 4 Portionen gesammelt. Das in den Perfusaten vorhandene Noradrenalin wurde an Al_2O_3 adsorbiert und anschließend mit 0,5 n H_2SO_4 eluiert. Das Noradrenalin wurde dann sowohl biologisch am Blutdruck der despinalisierten Ratte als auch fluorometrisch mit der Trihydroxyindolmethode bestimmt. Der Einfluß von Pharmaka auf die Elimination

von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit wurde geprüft, indem die Substanzen 8-27 Minuten vor und während der Noradrenalinperfusion einwirkten. Von unbehandelten Herzen wurden nach dem Ergebnis der biologischen Bestimmung in 7 Kontrollversuchen bei 27 Perfusatproben $50,0 \pm 1,7$ % des angebotenen Noradrenalins aus dem Perfusat eliminiert, nach der fluorometrischen Bestimmung $46,0 \pm 2,2$ %.

g-Strophanthin in den Konzentrationen 2×10^{-7} , $7,3 \times 10^{-7}$, $1,1 \times 10^{-6}$ und $1,46 \times 10^{-6}$ g/ml und MHIP in den Konzentrationen 10^{-6} , 5×10^{-6} und 10^{-5} g/ml hatten keinen Einfluß auf die Noradrenalinelimination aus der Perfusionsflüssigkeit. Cocain, aus Kontrollgründen untersucht, bewirkte in einer Konzentration von 10^{-5} g/ml eine signifikante Hemmung der Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit.

Die Befunde mit g-Strophanthin zeigen, daß sowohl therapeutische als auch toxische Konzentrationen die Elimination von Noradrenalin nicht beeinflussen. Die Ergebnisse mit MHIP sprechen dafür, daß Hemmung der Noradrenalin-aufnahme und β -rezeptorenblockierende Wirkung nicht korreliert zu sein brauchen, wie es aus Versuchen anderer Autoren hervorzugehen schien.

Literaturverzeichnis
=====

AXELROD, J., G. HERTTING and L. POTTER:

Effect of drugs on the uptake and release of H^3 -
norepinephrine in the rat heart.

Nature 194, 297, 1962

BERTLER, A., A. CARLSSON and E. ROSENGREN:

A method for the fluorimetric determination of
adrenaline and noradrenaline in tissues.

Acta physiol. scand. 44, 273, 1958

BLACK, J.W. and J.S. STEPHENSON:

Pharmacology of a new adrenergic beta-receptor-
blocking compound (nethalide).

Lancet II, 311, 1962

CAMPOS, H.A. and F.E. SHIDEMAN:

Subcellular distribution of catecholamines in the
dog heart. Effects of reserpine and norepinephrine
administration.

Int.J.Neuropharmacol. 1, 13, 1962

DENGLER, H.J., I.A. MICHAELSON, H.E. SPIEGEL and E. TITUS:

The uptake of labelled norepinephrine by isolated
brain and other tissues of the cat.

Int.J.Neuropharmacol. 1, 32, 1962

DOUTHEIL, U., S.S. SCHMIDT und K. KRAMER:

β -Rezeptoren blockierende und unspezifische Wirkungen des Nethalide am Herzlungenpräparat von Hunden.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 249, 237, 1964

ENGELHARDT, A.:

Methode zur Auswertung von β -Adrenolytica am isolierten Herzvorhof.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 250, 245, 1965

EULER, U.S.v., and I. ORWEN:

Preparation of extracts of urine and organs for estimation of free and conjugated noradrenaline and adrenaline.

Acta physiol.scand. 33, Suppl. 118, 1, 1955

GILLESPIE, J.S. and M. KIRPEKAR:

Removal of noradrenaline from the blood flowing through the spleen.

J. Physiol. (Lond.) 169, 100 P, 1963

HERTTING, G., J. AXELROD and L.G. WHITBY:

Effect of drugs on the uptake and metabolism of H^3 -norepinephrine.

J.Pharmacol.exp.Ther. 134, 146, 1961

HOLZBAUER, M. and M. VOGT:

Depression by reserpine of the noradrenaline concentration in the hypothalamus of the cat.

J. Neurochemistry 1, 8, 1956

IVERSEN, L.L.:

The uptake of noradrenaline by the isolated perfused rat heart.

Brit.J.Pharmacol. 21, 523, 1963

IVERSEN, L.L.:

Inhibition of noradrenaline uptake by sympathomimetic amines.

J. of Pharmacy and Pharmacol. 16, 435, 1964

KLAUS, W.:

Neuere Aspekte über den Wirkungsmechanismus der Herzglykoside.

Zeitschrift für naturwissenschaftlich-medizinische Grundlagenforschung 2, 43, 1964

LINDMAR, R. und E. MUSCHOLL:

Einfluß von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit des isolierten Herzens.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak.

243, 347, 1962

LINDMAR, R. und E. MUSCHOLL:

Die Wirkung von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit und die Noradrenalinaufnahme in das isolierte Herz. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.u.Pharmak. 247, 469, 1964

MORAN, N.C. and M.E. PERKINS:

Adrenergic blockade of the mammalian heart by a dichloro analogue of isoproterenol. J.Pharmacol.exp.Ther. 124, 223, 1958

MUSCHOLL, E.:

Die Hemmung der Noradrenalinaufnahme des Herzens durch Reserpin und die Wirkung von Tyramin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 212, 234, 1960

MUSCHOLL, E.:

Effect of cocaine and related drugs on the uptake of noradrenaline by heart and spleen. Brit.J.Pharmacol. 16, 352, 1961

POTTER, L.T. and J. AXELROD:

Properties of norepinephrine storage particles of the rat heart. J.Pharmacol. exp.Therap. 142, 299, 1963

SIEGEL, J.H., J.P. GILMORE and S. SARNOFF:

Myocardial extraction and production of catecholamines.

Circul. Res. 9, 1336, 1961

SNEDECOR, G.W.:

Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology.

Iowa state college press. 4. Edt. 1950

SPECTOR, W.S.:

Handbook of Toxicology, Vol. I, 284. W.B.

Saunders Company, Philadelphia and London 1956

STRÖMBLAD, B.C.R. and M. NICKERSON:

Accumulation of epinephrine and norepinephrine by some rat tissues.

J.Pharmacol.exp.Therap. 134, 154, 1961

THOENEN, H., A. HÜRLIMANN and W. HAEFELY:

The effect of sympathetic nerve stimulation on volume, vascular resistance, and norepinephrine output in the isolated perfused spleen of the cat, and its modification by cocaine.

J.Pharmacol.exp.Therap. 143, 57, 1964

WHITBY, L.G., J. AXELROD and H. WEIL-MALHERBE:

The fate of H^3 -norepinephrine in animals.

J.Pharmacol.exp.Therap. 132, 193, 1961

Lebenslauf

Am 5.12.1935 wurde ich, Erwin Weber, als Sohn der Eheleute Ludwig und Anni Weber in Wiesbaden-Biebrich geboren. Von Herbst 1942 bis Herbst 1946 besuchte ich die Volksschule in Wiesbaden-Amöneburg. Danach war ich Schüler des Rabanus-Maurus-Gymnasiums in Mainz, an dem ich am 4.3.1955 die Reifeprüfung ablegte.

Vom 1.4.1955 bis 31.3.1956 war ich als Apothekenpraktikant in Wiesbaden beschäftigt. Nach einem Jahr jedoch gab ich die Tätigkeit in der Apotheke auf, um Medizin zu studieren. Ich immatrikulierte mich zum Sommersemester 1956 an der Universität in Frankfurt/Main. Hier legte ich am 28.10.1958 die ärztliche Vorprüfung ab. Danach studierte ich in Innsbruck, München und wieder in Frankfurt/Main, wo ich am 22.2.1962 die ärztliche Prüfung bestand.

Von März 1962 bis Februar 1964 war ich als Medizinalassistent an folgenden Kliniken tätig: Medizinische Klinik II der Städt. Krankenanstalten Wiesbaden (1.3.1962 bis 31.12.1962), Universitätshautklinik Frankfurt/Main (2.1.1963 bis 28.2.1963), Chirurgische Universitätsklinik Frankfurt/Main (1.3.1963 bis 30.6.1963), Städtische Frauenklinik Wiesbaden (1.7.1963 bis 31.10.1963) und Universitätskinderklinik Frankfurt/Main (1.11.1963 bis 29.2.1964). Am 29.2.64 erhielt ich die ärztliche Approbation. Seit 1.4.1964 bin ich am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz beschäftigt, wo die vorliegende Dissertation entstand

